

ВИВЧЕННЯ ARG325GLN ПОЛІМОРФІЗМОМУ ГЕНА GGCX У ХВОРИХ З ГОСТРИМ КОРОНАРНИМ СИНДРОМОМ

Бороденко А. О., студ.

Науковий керівник – проф. Атаман О. В.

СумДУ, кафедра фізіології і патофізіології з курсом медичної біології

В Україні, як і у більшості країн світу, перше місце серед причин смертності та інвалідності населення посідають хвороби серцево-судинної системи. Дослідженнями ВООЗ показано, що традиційні підходи в терапії цих та інших поширених мультифакторіальних хвороб малоефективні і ведуть до суттєвих економічних витрат. У зв'язку з чим, особливо гостро сьогодні постає проблема виявлення осіб з підвищеним кардіо-васкулярним ризиком, вирішення якої пов'язане з вивченням генетичних маркерів патологій серця і судин.

До останніх можна віднести ген γ -глутамілкарбоксилази.

Вітамін К-залежна γ -глутамілкарбоксилаза (GGCX) – інтегральний трансмембранний протеїн, що каталізує посттрансляційне карбоксилювання глутамінової кислоти до γ -карбоксиглутамінової кислоти в молекулах цілої низки протеїнів, перетворюючи їх таким чином із неактивної форми в активну. До таких відносять і білки, які відіграють роль у розвитку атеросклеротичного процесу та його ускладнень, що являє собою основу патогенезу багатьох захворювань серцево-судинної системи, зокрема гострого коронарного синдрому. Ген GGCX має 1 копію і розміщений на короткому плечі 2-ї хромосоми (2p12). Довжина гена становить 13151 нуклеотид. Він складається з п'ятнадцяти екзонів, на які припадає 2277 нуклеотидів. На сьогодні описано понад 400 поліморфізмів поодиноких нуклеотидів у гені γ -глутамілкарбоксилази людини. Для поліморфізму 8 екзону Arg325Gln доведений зв'язок з деякими серцево-судинними хворобами в іноземних популяціях. В нашій країні такі дослідження не проводились. Тому метою нашого дослідження стало вивчення частоти алельних варіантів гена GGCX за Arg325Gln поліморфізмом у хворих з гострим коронарним синдромом та практично здорових індивідуумів в українській популяції. У дослідженні була використана венозна кров 118 хворих із ГКС та 110 практично здорових донорів. Контрольна група і група хворих не відрізнялися за співвідношенням осіб різної статі ($P > 0,05$ за χ^2 -критерієм), середній вік першої ($66,0 \pm 0,95$ років) був істотно вищим, ніж другої ($P < 0,001$). Поліморфізм восьмого екзону визначали методом полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом довжини рестрикційних фрагментів. Для ампліфікації брали 50–100 нг ДНК і додавали до суміші, що містила 5 мкл 5-кратного PCR-буфера, 1,5 мМ сульфату магнію, 250 мкМ суміші чотирьох нуклеотидтрифосфатів, по 10 рМ кожного з праймерів і 1,0 ОД Таq-полімерази, об'єм доводили до 25 мкл деіонізованою водою

Використовували пару специфічних праймерів:

прямий (sense) – 5'-GGAGAAGTCTCCTAAGGGAACG-3' і зворотний (antisense) – 5'-AGTCCAGCCTTTGCTGTACACT-3. Програма ампліфікації була наступною: денатурація – 94 °C (50 с), гібридизація праймерів – 65,0 °C (30 с), елонгація – 72 °C (1 хв), разом 30 циклів. У подальшому 6 мкл продукту ампліфікації інкубували при 37 °C упродовж 20 годин із додаванням 2 ОД рестриктази XmnI у буфері Tango такого складу: 33 мМ трис-ацетату (рН 7,9), 10 мМ ацетату магнію, 66 мМ ацетату калію, 0,1 мг/мл альбуміну. Якщо в 8762-й позиції гена GGCX містився гуанін, ампліфікат, який складався з 384 пар основ, розщеплювався рестриктазою XmnI на два фрагменти: 216 і 168 пар основ. У разі заміни гуаніну на аденін сайт рестрикції для XmnI втрачався і утворювався один фрагмент розміром 384 пар основ. Горизонтальний електрофорез (0,1 А; 200 В) проводили впродовж 40 хв. Одержані результати опрацьовували статистично з використанням програми SPSS-17.0. Значення $P < 0,05$ вважали достовірним.

Встановлено, що співвідношення нормальних гомозигот, гетерозигот і гомозигот із мінорним алелем при аналізі Arg325Gln поліморфізму складало у хворих з ГКС – 27,1%, 52,5%, 20,4%, а в контрольній групі – 35,0%, 52,2%, 12,8% відповідно ($P = 0,110$ за χ^2 -критерієм). Таким чином не виявлено зв'язку між Arg325Gln поліморфізмом гена GGCX і розвитком ГКС. Лише в осіб із підвищеним артеріальним тиском, що є гомозиготами за мінорним алелем (Gln/Gln) за поліморфізмом Arg325Gln гена GGCX, ризик ГКС у 3,3 раза більший, ніж у гомозигот за основним алелем (Arg/Arg).